

АНТИГЕННЫЕ КЛАСТЕРЫ ТРАНСМЕМБРАННЫХ И КАПСИДНЫХ БЕЛКОВ ВИРУСА АРТРИТА-ЭНЦЕФАЛИТА КОЗ И ИХ БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ

Е.С.Покровская – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; **Э.А.Шуралев** – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, доцент; **М.Н.Мукминов** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, профессор; **И.А.Елизарова** – младший научный сотрудник; **Т.Х.Фаизов** – доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией.

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г.Казань (420075, г.Казань, Научный городок-2, e-mail: vniiv@mail.ru).

Артрит-энцефалит коз – высоко контагиозная медленно протекающая вирусная инфекция коз, распространенная на всех континентах. Выделение вируса на культуре клеток не всегда достаточно для постановки диагноза, а диагностика путем установления специфических антител может стать более эффективной. Имеющиеся на сегодняшний день в открытом доступе биоинформационные базы данных позволяют проводить анализ аминокислотных последовательностей участков белков, что позволяет в значительной степени сократить трудоемкие затраты на проведение экспериментальных исследований. Цель данной работы: изыскание антигенов вируса артрита-энцефалита коз с иммуногенными эпитопами, имеющими наибольшее сходство у различных штаммов данного патогена. **Материалы и методы.** Методами биоинформационного анализа были исследованы антигенные детерминанты белков вируса артрита-энцефалита коз с использованием базы данных биоинформатики NCBI PubMed, базы данных иммунных эпитопов IEDB. **Результаты исследований.** В результате были обнаружены две специфические указанным вирусом группы: эпитопы белков, кодируемых геном *env*, и эпитопы белков, кодируемых геном *gag*. BLAST анализом аминокислотных последовательностей антигенов было установлено, что большинство эпитопов исследованных белков имеют значительные совпадения с вирусом артрита-энцефалита коз и общегрупповыми лентивирусами мелкого рогатого скота. По показателям степени и количества совпадений эпитопы были разделены на 3 условные группы: с высокой, средней и низкой степенью совпадений. **Заключение.** Было установлено, что наибольшую диагностическую ценность представили два эпитопа трансмембранного белка TM gp38 и один – капсидного белка p25. Это выражается в высокой вероятности, достаточной степени и наибольшем количестве совпадений их аминокислотных последовательностей как с белками большинства штаммов вируса артрита-энцефалита коз, так и общегрупповых лентивирусов мелкого рогатого скота.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лентивирусы мелкого рогатого скота, ВАЭК, гликопротеины, иммуногенный эпитоп, BLAST анализ.

Вирусный артрит-энцефалит коз (ВАЭК) входит в утвержденный Приказом МСХ РФ от 09.03.11г. №62 «Перечень заразных и иных болезней животных» под номером 68 (Артрит-энцефалит коз) [1]. Согласно утвержденному решением Комиссии Таможенного союза № 888 от 09.12.11г. Таможенному регламенту Таможенного союза (ТР ТС 021/2011) «О безопасности пищевой продукции», вступившему в силу 01.07.2013г. [2], для реализации мяса и мясной продукции, полученных от убой коз, а также диких мелких жвачных парнокопытных, хозяйства должны быть свободными от ВАЭК в течение последних 36 месяцев. ВАЭК относится к заболеваниям, подлежащим обязательной нотификации в Международном эпизоотическом бюро (МЭБ). Согласно рекомендациям МЭБ, изложенным в статье 14.2. Кодекса наземных животных [3], при импорте овец и коз должен быть предоставлен международный ветеринарный сертификат о том, что животные из благополучных по ВАЭК территорий.

ВАЭК – медленно протекающая вирусная болезнь, сопровождающаяся развитием энцефаломиелитов

(преимущественно у молодняка), хронических пролиферативных синовитов, периартритов, прогрессирующих интерстициальных пневмоний и интрабульбарных маститов. Болезнь, известная также как лейкоэнцефаломиелит-артрит коз [4, 5], встречается в районах интенсивного козоводства Европы, Австралии, США. Распространению вируса ВАЭК в мире способствуют перевозки животных с латентным течением инфекции из неблагополучных стран в благополучные, при отсутствии обязательной диагностики данной болезни во время карантинирования коз. Публикации российских ученых говорят о назревшей проблеме ВАЭК и на территории РФ [6, 7]. Исследованиями в реакции диффузионной преципитации 385 проб сывороток крови коз Сидельников Г.Д. [8] выявил сывороточные антитела к ВАЭК у 59 животных из хозяйств Московской, Владимирской и Тверской областей Российской Федерации (РФ), что указывает на циркуляцию вируса на территории РФ.

Вирус ВАЭК относится к семейству Retroviridae, подсемейству Orthoretrovirinae, роду Lentivirus. К вирусу ВАЭК восприимчивы домашние козы, есть ин-

формация и об инфицировании овец [9, 10], крупного рогатого скота [11]. Есть сведения об образовании антител к антигенам вируса ВАЭК у людей, употреблявших молоко зараженных коз [12], однако на вопрос возможности инфицирования человека ответа еще нет. По многим свойствам вирус ВАЭК сходен с вирусом Висны-Мазди овец [4].

Диагностика ВАЭК по клиническим и патоморфологическим признакам хоть и является специфической, но не выявляет большое число латентных носителей [13]. ВАЭК имеет персистентный характер, следовательно, выделение вируса на культуре клеток не достаточно для постановки диагноза, т.к. занимает много времени и не всегда проявляется цитопатический эффект, но использование культур клеток эффективно в изучении самого вируса [14]. Более эффективными для диагностики ВАЭК являются молекулярно-генетические (полимеразно-цепная реакция – ПЦР) [15] и серологические методы, а обнаружение антител в этом случае является достаточным для идентификации носителей вируса. Однако из-за поздней (1,5-2 месяца) постинфекционной сероконверсии, часть недавно инфицированных животных может быть серонегативна, что требует изыскания новых антигенов, с помощью которых антителообразование можно выявлять на ранних стадиях инфицирования.

Единственное эффективное средство борьбы с ВАЭК – убой всех животных в неблагополучных и подпадающих в неблагополучия хозяйствах, поскольку специфические меры профилактики не разработаны [8]. Однако есть публикации об эффективности иного подхода, заключающегося в отъеме новорожденных козлят до приема ими молока матери, инфицированной ВАЭК, и раздельного содержания от общего стада с кормлением пастеризованным молоком [16]. Этот подход позволяет сохранить высокопродуктивное стадо, постоянно получать от него приплод, которым впоследствии можно заменить все поголовье в хозяйстве. Для эффективной его реализации необходимо регулярно осуществлять иммунологический мониторинг поголовья, с целью своевременного выявления инфицированных животных, с последующей их изоляцией.

Наличие на территории РФ потенциально-восприимчивых животных в сочетании с отсутствием доступных средств диагностики данной болезни и мер борьбы с ней указывает на высокую вероятность распространения ВАЭК в козоводческих хозяйствах России. Изыскание антигенов вируса ВАЭК с иммуногенными эпитопами, специфичными большинству известных циркулирующих штаммов, является актуальной проблемой для создания высокоэффективной серологической тест-системы.

Целью исследований являлось изыскание антигенов вируса ВАЭК с иммуногенными эпитопами, имеющими наибольшее сходство у различных штаммов данного патогена, которые в дальнейшем могли бы служить для разработки диагностических тест-систем,

основанных на выявлении специфических антител у инфицированных коз.

Материалы и методы. Методами биоинформационного анализа были исследованы антигенные детерминанты белков вируса ВАЭК с использованием базы данных биоинформатики NCBI PubMed, базы данных иммунных эпитопов IEDB. При проведении BLAST-анализа (программное обеспечение, предназначенное для сравнения изучаемой аминокислотной последовательности белка с имеющейся базой данных белков и их участков) учитывали вероятность (E-value), степень и количество совпадений аминокислотных последовательностей. E-value<0,2 – указывает на высокую вероятность совпадения исследуемой последовательности с таковой в базе данных, если же E-value значительно превышает значение 0,2, то это означает, что исследуемая последовательность с меньшей вероятностью совпадает с представленной в базе данных. В связи с этим, нами учитывалось количество совпадений только при значении E-value<0,2. Степень совпадений аминокислотных последовательностей выражается в баллах. При этом наилучшим критерием является 200 баллов и более, а наихудшим – менее 50 баллов.

Результаты исследований. Согласно современной классификации Международного комитета по систематике вирусов (ICTV), вид вирус артрита-энцефалита коз (Caprine arthritis encephalitis virus) входит в род лентивирусов (Lentivirus), который помимо этого объединяет еще 8 других видов: вирус иммунодефицита крупного рогатого скота, вирус инфекционной анемии лошадей, вирус иммунодефицита кошек, вирусы иммунодефицита человека (HIV-1 и HIV-2), лентивирус пум, вирус иммунодефицита обезьян, вирус Висна-Мазди. Род лентивирусов входит в подсемейство Orthoretrovirinae, объединяющее 6 из 7 родов семейства ретровирусов (Retroviridae).

Вирионы ВАЭК имеют 6 структурных белков, из них 4 внутренних (капсидных) негликолизированных и 2 гликопротеина оболочки. Основными структурными генами кодирующими трансляцию белков, из которых в последующем строится вирус, являются gag (group-specific antigens), pol (polymerase), env (envelope). Два оболочечных белка: SU (surface – поверхностный) и TM (transmembrane – трансмембранный), кодируются вирусным геном env. Внутренние негликолизированные структурные белки кодируются геном gag.

При поисковом исследовании в базе данных NCBI были найдены следующие штаммы вируса ВАЭК: штамм G63, штамм Ov496, штамм Rossaverano, штамм Cork, а также различные полевые изоляты. Штамм G63 представлен двумя белками: ENV_CAEVG (гликопротеин длиной 942 аа, кодируемый геном env) и VPRI_CAEVG (Vpr-подобный белок, отвечающий за остановку клеточного цикла хозяина, что создает благоприятную среду для максимизации вирусной экспрессии, 87 аа, кодируется геном tat). В базе данных NCBI найдены следу-

ющие белки штамма Ov496: Rev-protein (134 aa), Env-polyprotein (948 aa), Tat-protein (87 aa), Vif-protein (229 aa), Pol-polyprotein (1100 aa), Gag-polyprotein (446 aa). Белки вируса штамма Roccaverano: Pol-polyprotein (977 aa), Env-polyprotein (909 aa), Rev-protein (122 aa), Vif-protein (227 aa), Gag-polyprotein (442 aa). И штамм Cork в базе

данных представлен белками: POL_CAEEVC (1109 aa), GAG_CAEEVC (441 aa), VPRL_CAEEVC (87 aa), REV_CAEEVC (133 aa), VIF_CAEEVC (229 aa), ENV_CAEEVC (966 aa). Как видно, оболочечные белки разных штаммов, кодируемые геном env, варьируют от 909 до 966 aa, а капсидные белки, кодируемые геном gag, – от 441 до 446 aa.

Таблица 1

Иммуногенные эпитопы белков, кодируемых геном env вируса артрита-энцефалита коз

Идентификатор в IEDB	Аминокислотная последовательность	Штамм/изолят вируса	Наименование белка	Участок белка	Метод выявления (результат)
ID 2308	AKTRIINRRKRELS	G63	ENV_CAEEVC	611-624	ELISA (+)
ID 7244	CTWQWRELGQYD	полевые	env-glycoprotein	747-760	ELISA (+)
ID 9392	DMPSYQNGEKYKK	полевые	env-glycoprotein	35-49	Ингибирование антигена (+)
ID 13407	EMPKNYEKVSINRKK	полевые	env-glycoprotein	35-49	Ингибирование антигена (-)
ID 13409	EMPTSYMESQKRKKK	полевые	env-polyprotein	41-54	Ингибирование антигена (-)
ID 19336	GELDGMILHQIILQ	G63	ENV_CAEEVC	576-589	ELISA (-)
ID 24602	HQIILQKYQVIKV	G63	ENV_CAEEVC	583-596	ELISA (+)
ID 25897	IEMPENYAKTRIIN	G63	ENV_CAEEVC	604-617	ELISA (+)
ID 34181	KVRAYTYGVIEMPENYAKTRIINRKK	полевые	env-glycoprotein	23-48	ELISA (+)
ID 34182	KVRAYTYGWDMPQSYQNGEKYKK	полевые	env-glycoprotein	25-49	ELISA (+); Ингибирование антигена (+)
ID 34183	KVRAYTYGWEMPTSYMESQKRKKK	полевые	env-polyprotein	31-54	Ингибирование антигена (-)
ID 34585	KYQVIKVRAYTYGV	G63	ENV_CAEEVC	590-603	ELISA (+)
ID 50636	GELDCWHYHQYICIS	Cork	ENV_CAEEVC	717-731	ELISA (+)
ID 53255	RAYTYGVIEMPENY	G63	ENV_CAEEVC	597-610	ELISA (+)
ID 55631	RRKRELSHTRKKR	G63	ENV_CAEEVC	618-630	ELISA (+)
ID 56388	RVRAYTYGVIDLPQSYEKINLKRRK	полевые	env-glycoprotein	25-49	ELISA (+)
ID 56389	RVRAYTYGVIEMPENYKVSINRKK	полевые	env-glycoprotein	25-49	ELISA (-)
ID 75706	YSCENNIGELDGMIL	G63	ENV_CAEEVC	569-582	ELISA (-)
ID 91172	CTWQWRELGQYD	Cork	ENV_CAEEVC	749-762	Фаровый дисплей (+)
ID 91218	DVLEATYAMVQHVAK	Cork	ENV_CAEEVC	680-694	Фаровый дисплей (+); ELISA (+)
ID 91222	EAITDRIMLYQE	Cork	ENV_CAEEVC	707-718	Фаровый дисплей (+); ELISA (+)
ID 91229	EDYTLUSDPIYGFSPKINVSQVPTCVTKF AKW	Cork	ENV_CAEEVC	84-117	Фаровый дисплей (+); Ингибирование антигена (+); Western Blot (+)
ID 91233	EFAKWCOPLAGYDPDEIERYNVSQEVKVEV	Cork	ENV_CAEEVC	113-143	Фаровый дисплей (+); Western Blot (+)
ID 91560	KESAAMTQIAEEQARRIPEWESLKDVFDFW SGWFSWLKPIIVVGLLG	Cork	ENV_CAEEVC	770-818	Фаровый дисплей (+)
ID 91791	PIPVGAIEIPESMKYLRGAKSQYGGIKDKNG ELKLPLTL	Cork	ENV_CAEEVC	288-326	Фаровый дисплей (+); Western Blot (+)
ID 92102	VCQPLVQMRITLSTPTQRYVTIMETRADVAG ENQDFGGLEESONS	Cork	ENV_CAEEVC	828-874	Фаровый дисплей (+)
ID 103144	EMPENYAKTRIINRKK	полевые	env-polyprotein	607-622	Ингибирование антигена (+)
ID 109456	KVRAYTYGWDMPSPNYEQKDRKKRD	It-56 f	env-glycoprotein	107-131	ELISA (+)
ID 109886	RVRAYTYGVIDMPKNYEKTNLRKK	It-P1	env-glycoprotein	107-131	ELISA (+)

Для выявления потенциальной возможности использования белков в диагностических целях был проведен поиск иммуногенных эпитопов с использованием базы данных IEDB. В результате были обнаружены

две специфические вирусу ВАЭК группы: эпитопы белков, кодируемых геном *env* (табл. 1), и эпитопы белков, кодируемых геном *gag* (табл. 2).

Таблица 2

Иммуногенные эпитопы белков, кодируемых геном *gag* вируса артрита-энцефалита коз

Идентификатор в IEDB	Аминокислотная последовательность	Штамм/изолят вируса	Наименование белка	Участок белка	Метод выявления (результат)
ID 20295	GLICHNCGRGHMKDCRGKK	полевые	<i>gag</i> -protein	404-424	ELISA (-)
ID 21506	GNRAQKELQGLNNEAEFRWRNNPPPPA	полевые	<i>gag</i> -protein	198-226	ELISA (+)
ID 32387	KMQQGNRRGIRVWPS	полевые	<i>gag</i> -protein	429-442	ELISA (+)
ID 32388	KMQQGNRRGIRVWPSAPPME	полевые	<i>gag</i> -protein	429-447	ELISA (+)
ID 33018	KQKTNEPYDFAARLLEDAE	Cork; полевые	<i>gag</i> -protein	289-310	ELISA (+); Western Blot (+)
ID 103507	PYEDFAARLLEDAE	полевые	<i>gag</i> -protein	295-310	Ингибирование антигена (+)

BLAST анализом аминокислотных последовательностей антигенов, кодируемых геном *env*, было установлено, что все эпитопы, указанные в таблице 1, имеют значительные совпадения с вирусом ВАЭК и общегрупповыми лентивирусами мелкого рогатого скота (E -value < 0,2), однако количество и степень совпадений различаются. По этому признаку все представленные эпитопы были разделены на 3 условные группы.

I группа (с высокой степенью совпадений) – последовательности aa (аминокислот), степень совпадений у которых с таковыми, представленными в базе данных, составляет 80–200 баллов. Сюда вошли ID 34181, ID 34182, ID 56388, ID 56389, ID 91560, ID 91791, ID 92102. При этом количество совпадений с общегрупповыми лентивирусами мелкого рогатого скота было более 100 в отношении всех эпитопов, кроме ID 92102, где этот показатель был равен 20. В случае с ID 34181 количество совпадений с вирусом ВАЭК, а не только с общегрупповыми лентивирусами, этот показатель был максимальным – более 100.

II группа (со средней степенью совпадений, равной 50–80 баллов) включает в себя: эпитопы с количеством совпадений с общегрупповыми лентивирусами более 100: ID 13407, ID 34183, ID 50636, ID 53255, ID 75706, ID 91218, ID 91229, ID 91233, ID 103144, ID 109456, ID 109886. 3 других эпитопов этой группы имели меньшее число совпадений – ID 7244, ID 9392, ID 25897. Максимальное количество совпадений с вирусом ВАЭК (81) было у ID 75706, однако этот участок антигена не связывался с антителами инфицированных животных (табл. 1), что вероятнее всего связано с тем, что он не находится на поверхности антигена и не является иммуногенным эпитопом.

III группа (с низкой степенью совпадений – менее 50) включает оставшиеся 8 эпитопов, кодируемых геном *env*. При этом у последовательностей aa эпитопов ID 13409, ID 19336, ID 24602, ID 34585, ID 55631 коли-

чество совпадений с общегрупповыми лентивирусами было более 100, а трех остальных (ID 2308, ID 91172, ID 91222) – от 15 до 54. С вирусом ВАЭК наибольшее количество совпадений было у эпитопов ID 34585, равное 80.

Оба эпитопы, проявившие наибольшее сходство, входят в состав *Env*-полипротеина вируса ВАЭК, длиной 942 aa, кодируемого геном *env*, который состоит из трансмембранного гликопротеина (TM gp38) и поверхностного гликопротеина (SU gp135). TM gp38 имеет следующую aa последовательность (подчеркнутым выделен участок, покрываемый иммуногенными эпитопами ID 34181 и ID 34585):

531 PHKESNKWT CAPRQRDQGT DSLIAGGKK
FWTRIKAQFS CESNIGQLDG 580
581 MVHQILLQK YQVIVKRAYT YGVIEPENY
AKTRIINRKK RELSHKRRKK 630

Аналогичный BLAST анализ последовательностей aa был проведен и в отношении антигенов, кодируемых геном *gag*, представленных в таблице 2. У эпитопов I группы ID 21506 количество совпадений с лентивирусами мелкого рогатого скота был в более чем 100 случаях, а с вирусом ВАЭК – в 58. Во II группу вошли 4 эпитопы: ID 20295, ID 32388, ID 33018, ID 103507, количество совпадений с общегрупповыми лентивирусами, которых было более 100, а максимум совпадений с вирусом ВАЭК был у ID 33018 – 31 случай. 1 эпитоп III группы – ID 32387 – имел эти показатели на уровне 45 и 6, соответственно.

Эпитоп, проявивший наибольшее сходство, является частью *Gag*-полипротеина, кодируемого геном *gag*, длиной 441 aa, содержащего матричный белок p16, капсидный белок p25, нуклеокапсидный белок p14. Капсидный белок p25 имеет следующую aa последовательность (эпитоп ID 21506 выделен подчеркиванием):

133 SYPHQLINQA AGGRSWKAVD SVMFOQLQTV
AMQHGLVSED FERQLAYAT 182

183 TWT SKDILEV LAMMPGNRAQ KELIQGLNE
EAERWRRNNP PPPAGGLXS 232
233 GSNNGGR 239

Капсидные белки несут группоспецифические межвидовые антигены и являются основой для разделения вирусов на роды и подроды. Гликопротеиды являются типоспецифическими антигенами, участвуют в реакции нейтрализации.

Трансмембранный белок действует как химерный вирусный белок первого класса. Белок имеет по меньшей мере три конформационных состояния: пре-химерное нативное состояние, пре-шпилированное промежуточное состояние, постхимерное шпилированное состояние. Во время слияния вируса и клетки-мишени скрученные друг с другом спирализованные участки 2-7 альфа-спиралей вторичной структуры белка похожи на тримерную шпилированную структуру, расположенную в химерном белке близко к С-терминальному участку эктодомена. Образование этой структуры приводит к присоединению и зачастую к слиянию вируса и цитоплазматической мембраны клетки-хозяина. Мембранные слияния приводят к внедрению нуклеокапсида вируса в цитоплазму клетки.

Трансмембранный гликопротеин и поверхностный белок Епв-полипротеина проявляют иммунодоминантные свойства у большинства зараженных коз в сравнении с внутренними негликолизированными структурными белками [17]. Трансмембранная часть Епв-полипротеина является более консервативной, чем поверхностный белок, и высококонсервативным лентивирусным иммунодоминантным эпитопом внешнего домена. Так, четыре иммунодоминантных

эпитопы обнаружены в трансмембранном домене вируса ВАЭК. Причем, три из них связано с клинически выраженным артритом [17]. Gag-полипротеин несет иммунодоминантный Т-хелперный эпитоп, индуцирующий активный иммунный ответ у иммунизированных аналогичным белком коз.

Антитела против оболочечных антигенов активно образуются у большинства инфицированных животных уже на ранних сроках инфекции. Антитела против Gag-полипротеина образуются раньше, чем антитела против трансмембранного гликопротеина, и их титр снижается медленнее [18]. У коз с прогрессирующим артритом отмечаются высокие сывороточные титры трансмембранных единиц оболочечного гликопротеина (Епв) вируса ВАЭК [17]. Следовательно, Епв-полипротеин и Gag-полипротеин обладают достаточной иммуногенной активностью.

Заключение. Вирус ВАЭК имеет два иммунодоминантных белка: Епв-полипротеин, кодируемый геном епв, и Gag-полипротеин, кодируемый геном gag. Епв-полипротеин состоит из трансмембранного TM gp38 и поверхностного гликопротеина SU gp135. Gag-полипротеин содержит матричный белок р16, капсидный белок р25 и нуклеокапсидный белок р14. Два аминокислотные последовательности иммуногенного эпитопа TM gp38, перекрывающие одна другую, и одна – капсидного белка р25, обладают наибольшей диагностической значимостью, что выражается в высокой вероятности, достаточной степени и наибольшем количестве совпадений их как с белками большинства штаммов вируса ВАЭК, так и общегрупповых лентивирусов мелкого рогатого скота.

Литература

1. Об утверждении перечня заразных и иных болезней животных: приказ от 9 марта 2011 г. № 62 / Официальный интернет-портал Министерства сельского хозяйства РФ. [Электронный ресурс] // URL: <http://www.mcx.ru/documents/document/show/17371.156.htm>, - (дата обращения: 01.09.2015).
2. Воронин, Б.А. Обеспечение качества и безопасности продукции животноводства в рамках Таможенного союза (информация о технических регламентах) / Б.А.Воронин, И.М.Донник, О.Г.Лоретц // *Аграрный вестник Урала*. – 2014. – № 4(122). – С. 78-84.
3. Артрит/энцефалит коз // Кодекс здоровья наземных животных. Том II. Общие положения. – 22-е изд. – МЭБ, 2013. – С. 694-699.
4. Transmission of small ruminant lentiviruses / B.Blacklaws [et al.] // *Vet Microbiol.* – 2004. – V. 101, 3. – P. 199-208.
5. Mammary transmission of caprine arthritis encephalitis virus: a 3D model for in vitro study / C.Le Jan [et al.] // *Reprod. Nutr. Dev.* – 2005. – V. 45, 4. – P. 513-523.
6. Опыт оздоровления хозяйства, неблагополучного по артриту-энцефалиту коз / Г.Д.Сидельников [и др.] // *Ветеринария*. – 2007. – № 12. – С. 25-26.
7. Нозогеография артрита-энцефалита коз / А.Ю.Чичикин [и др.] // *Ветеринария*. – 2011. – № 2. – С. 19-21.
8. Сидельников, Г.Д. Биологические свойства вируса артрита-энцефалита коз: дис. ... канд. вет. наук.: 16.00.03 / Г.Д.Сидельников. – Покров, 2009. – 129 л.
9. Experimental infection of Mouflon-domestic sheep hybrids with caprine arthritis encephalitis virus / E.Guiguen [et al.] // *Am. J. Vet. Res.* – 2000. – V. 61, 4. – P. 456-461.
10. Larruskain, A. Retroviral infections in sheep and goats: small ruminant lentiviruses and host interaction / A.Larruskain, B.Jugo // *Viruses*. – 2013. – V. 5, 8. – P. 2043-2061.
11. Заболевание телят, ассоциированное с вирусом артрита-энцефалита коз / А.А.Стрижаков [и др.] // *Ветеринария*. – 2005. – № 8. – С. 21-22.
12. Frequency of the serological reactivity against the caprine arthritis encephalitis lentivirus gp135 in children who consume goat milk / E.Tesoro-Cruz [et al.] // *Arch Med Res.* – 2009. – V. 40, 3. – P. 204-207.

13. Клиническая и патоморфологическая диагностика артрита-энцефалита коз / И.Ю. Волкова [и др.] // Ветеринария. – 2007. – № 1. – С. 23-25.
14. Лабораторная модель для изучения вируса артрита-энцефалита коз / Г.Д. Сидельников [и др.] // Ветеринария. – 2009. – № 4. – С. 52-55.
15. Цыбанов, С.Ж. Идентификация генома лентивирусов мелких жвачных методом ПЦР / С.Ж. Цыбанов, Д.В. Колбасов, Е.И. Барышников // Ветеринария. – 2009. – № 8. – С. 58-59.
16. The effect of caprine arthritis encephalitis virus infection on production in goats / G. Leitner [et al.] // Vet J. – 2010. – V. 183, 3. – P. 328-331.
17. B-cell epitopes of the envelope glycoprotein of caprine arthritis-encephalitis virus and antibody response in infected goats / G. Bertoni [et al.] // J Gen Virol. – 2000. – V. 81, pt. 12. – P. 2929-2940.
18. Variability and immunogenicity of caprine arthritis encephalitis virus surface glycoprotein / S. Valas [et al.] // J. Virology. – 2000. – V. 74, 13. – P. 6178-6185.

ANTIGENIC CLUSTERS OF TRANSMEMBRANE AND CAPSID PROTEINS OF CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS VIRUS AND THEIR BIOINFORMATIC ANALYSIS

Pokrovskaya E.S. - Candidate of Biological Sciences; **Shuralev E.A.** - Candidate of Veterinary Sciences; **Mukminov M.N.** - Doctor of Biology, professor; **Elizarova I.A.** - research assistant; **Faizov T.Kh.** - Doctor of Veterinary Medicine, professor.

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan (e-mail: vnvi@mail.ru).

Introduction: caprine arthritis encephalitis is a highly contagious slowly flowing viral infection of goats which spread on all continents. It is not sufficient to make a decision on basis of virus isolation on cell culture, and the diagnosis through the detection of specific antibodies may become more effective. Currently available with open access bioinformatic databases allow analysing protein amino acid sequences that would greatly reduce the costs of labor-intensive experimental surveys. The aim of this work is to study Caprine arthritis encephalitis virus antigens with immunogenic epitopes that have the greatest similarity among different strains of the pathogen. **Methods and materials:** using the methods of bioinformatics, database of proteins (NCBI PubMed) and immunogenic epitopes (IEDB), the antigenic determinants of Caprine arthritis encephalitis virus proteins were investigated. Results: two specific groups of the virus which are 1) protein epitopes encoded by env gen. and 2) protein epitopes encoded by gag gen were discovered. Using BLAST analysis of amino acid sequences of the antigens it was found that the majority of epitopes of studied proteins have significant overlaps with Caprine arthritis encephalitis virus and group specific small ruminant lentiviruses. In terms of a score and amount of alignments the epitopes were divided into three conventional groups with high, medium and low degree of matching. **Conclusion:** it has been established that the greatest diagnostic value is provided by two epitopes of transmembrane protein TM gp38 and one epitopes of capsid protein p25. That is expressed in high probability, sufficient degree and maximum number of matches of the amino acid sequences with proteins of both most strains of Caprine arthritis encephalitis virus, and the group specific small ruminant lentiviruses.

KEYWORDS: small ruminant lentiviruses, CAEV, glycoproteins, immunogenic epitope, BLAST analysis.

References

1. Ob utverzhenii perechnya zaraznykh i inyyh bolezney zhivotnykh: prikaz ot 9 marta 2011g. №62* [The order №62 of 9 March, 2011 «On statement of the List of infectious and other diseases of animals»]. The official internet-portal of the Russian Federation Ministry of Agriculture. URL: <http://www.mcx.ru/documents/document/show/17371.156.htm>.
2. Voronin, B.A. Obespecheniye kachestva i bezopasnosti produktsii zhivotnovodstva v ramkakh Tamozhennogo soyuza (informatsiya o tekhnicheskikh reglamentakh) [Providing the quality and safety of animal products in the framework of the Customs Union (information on technical regulations)] / Voronin B.A., Donnik I.M., Loretts O.G. // Agrarniy vestnik Urala. 2014. 4(122). P.78-84.
3. Artrit/entsefalit koz [Caprine arthritis encephalitis] // In: Terrestrial Animal Health Code. VII. General. 22th ed. OIE, 2013. – P.694-699.
4. Transmission of small ruminant lentiviruses / B. Blacklaws [et al.] // Vet Microbiol. – 2004. – V. 101, 3. – P. 199-208.
5. Mammary transmission of caprine arthritis encephalitis virus: a 3D model for in vitro study / C. Le Jan [et al.] // Reprod. Nutr. Dev. – 2005. – V. 45, 4. – P. 513-523.
6. Opyt ozdorovleniya khozyaystva, blagopoluchnogo po artritu-entsefalitu koz [Experience of recurrence the herd

- affected by caprine arthritis encephalitis] / G.D.Sidelnikov [et al.] // Veterinariya. - 2007. - Vol. 12. - P.25-26.
7. Nozogeografiya artrita-entsefalita koz [Nosogeography of caprine arthritis encephalitis] / A.Yu.Chichikin // Veterinariya. - 2011. - Vol. 2. - P.19-21.
8. Sidelnikov, G.D. Biologicheskiye svoystva virusa artrita-entsefalita koz [Biological properties of the caprine arthritis encephalitis virus]: thesis of Candidate of biological sci. / G.D.Sidelnikov. - Pokrov, 2009. - 129p.
9. Experimental infection of Mouflon-domestic sheep hybrids with caprine arthritis encephalitis virus / F.Guiguen [et al.] // Am. J. Vet. Res. - 2000. - V. 61, 4. - P. 456-461.
10. Larruskain, A. Retroviral infections in sheep and goats: small ruminant lentiviruses and host interaction / A.Larruskain, B. Jugo // Viruses. - 2013. - V. 5, 8. - P. 2043-2061.
11. Zabolovaniye telyat, assotsirovannoye s virusom artrita-entsefalita koz [Calves disease associated with caprine arthritis encephalitis virus] / A.A.Strizhakov [et al.] // Veterinariya. - 2005. - Vol. 8. - P.21-22.
12. Tesoro-Cruz E., Feria-Romero I.A., Orozco-Suarez S., et al. Frequency of the serological reactivity against the caprine arthritis encephalitis lentivirus gp135 in children who consume goat milk // Arch Med Res. 2009. V.40, 3. - P.204-207.
13. Chichikin A.Yu., Strizhakov A.A., Tsybanov S.Zh. Klinicheskaya i patomorfologicheskaya diagnostika artrita-entsefalita koz [Clinical and pathomorphological diagnosis of caprine arthritis encephalitis] / I.Yu.Volkova [et al.] // Veterinariya. 2007. V.1. - P.23-25.
14. Laboratornaya model dlya izucheniya virusa artrita-entsefalita koz [The laboratory model to study Caprine arthritis encephalitis virus] / G.D. Sidelnikov [et al.] // Veterinariya. - 2009. - Vol.4. - P.52-55.
15. Tsybanov, S.Zh. Identifikatsiya genoma lentivirusov melkikh zhivachnykh metodom PTsR [Identification of small ruminant lentivirus genome by PCR] / S.Zh. Tsybanov, D.V.Kolbasov, E.I.Baryshnikova // Veterinariya. - 2009. - Vol. 8. - P.58-59.
16. Leitner G., Kriitucks O., Weisblit L., et al. The effect of caprine arthritis encephalitis virus infection on production in goats // Vet J. 2010. V. 183, 3. P.328-331.
17. Berton G., Hertig C., Zahno M.L., et al. B-cell epitopes of the envelope glycoprotein of caprine arthritis-encephalitis virus and antibody response in infected goats // J Gen Virol. 2000. V. 81, pt. 12. - P. 2929-2940.
18. Valas S., Benoit C., Baudry C., Perrin G., Mamun R.Z. Variability and immunogenicity of caprine arthritis encephalitis virus surface glycoprotein // J. Virology. 2000. V.74, 13. P.6178-6185.

УДК.619:616.982.211:636

КОМПЛЕКСНЫЙ АЛЛЕРГЕН ИЗ МИКОБАКТЕРИОПОДОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

¹М.О. Баратов – кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией;

²М.М. Ахмедов – доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой

; ³О.П. Сакидибиров – кандидат ветеринарных наук, доцент.

¹ФГБУ «Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт», г. Махачкала (367000, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88; e-mail: alama500@rambler.ru).

²ФГБОУ ВПО «Дагестанский государственный аграрный университет им. М.М. Джамбулатова», г. Махачкала (367032, РД, г. Махачкала, ул. М.Гаджиева, д. 180, тел. +7 (8722) 69-61-00).

Комплексный антиген, состоящий из *M. scrofulaceum* №12-С и *M. intracellulare* №13-Н, широко используется в ветеринарной практике для дифференциации неспецифических реакций. Для повышения дифференцирующих функций данный состав комплексного антигена расширен сенситинами из *N. asteroides* ВКМ Ас 1077 и *R. bronchialis* ИМВ Ас 737. Целью данной работы явилось повышение специфичности и эффективности КАМ, включением в состав коринебактериозного сенситина. **Материалы и методы.** Для получения использовали культуру *Corynebacterium xerosis* N1911. Пороговую чувствительность аллергена определяли на зараженных коринебактериями морских свинок (при этом использовали белок в 6 концентрациях). Определенный порог в дозе 0,0003 мг белка в дальнейшем использовали при создании испытуемого аллергена, то есть 1350 единиц действия каждого из составляющих компонентов (атипичных микобактерий, нокардии, родококков) в 0,2 мл раствора и 0,0003 мг белка коринебактерий. **Результаты исследований.** Дифференцирующую способность аллергена определяли на зараженных микобактериями, коринебактериями, нокардиями и родококками морских свинок через 27 дней после заражения. В группе зараженных (*C. xerosis*, *M. scrofulaceum*, *Nasteroides* и *R. bronchialis*) реакция на испытуемый аллерген была заметно интенсивнее, нежели на комплексный аллерген. Морские свинки, зараженные М. БЦЖ на комплексный аллерген, реагировали незначительно выше. Заметная дифференцирующая способность испытуемого аллергена также выявлена и при исследовании 136 голов КРС